

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents
United States Patent and Trademark
Office
Box PCT
Washington, D.C. 20231
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 09 October 2000 (09.10.00)	Applicant's or agent's file reference P01194WO
International application No. PCT/DE00/00438	Priority date (day/month/year) 18 February 1999 (18.02.99)
International filing date (day/month/year) 16 February 2000 (16.02.00)	
Applicant LANGOWSKI, Jörg	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

10 August 2000 (10.08.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:2. The election ☒ was☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

<p>The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland</p> <p>Facsimile No.: (41-22) 740.14.35</p>	<p>Authorized officer</p> <p>Antonia Muller</p> <p>Telephone No.: (41-22) 338.83.38</p>
--	---



PCT
WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

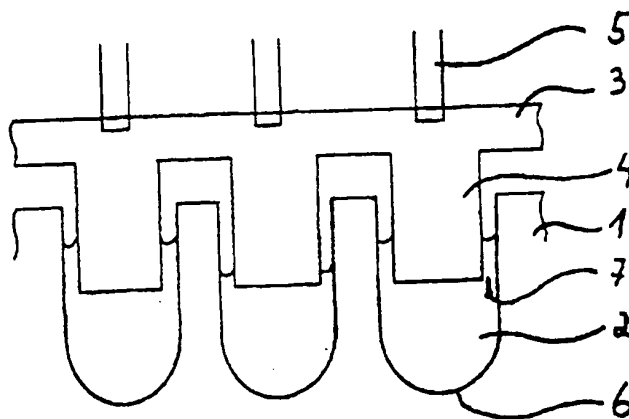
(51) Internationale Patentklassifikation 7 : G01N 21/00	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/49389
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE00/00438	(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 24. August 2000 (24.08.00)
(22) Internationales Anmeldedatum: 16. Februar 2000 (16.02.00)	(81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).
(30) Prioritätsdaten: 199 07 011.3 18. Februar 1999 (18.02.99) DE	Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i>
(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM [DE/DE]; Stiftung des öffentlichen Rechts, Im Neuenheimer Feld 280, D-69120 Heidelberg (DE).	
(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): LANGOWSKI, Jörg [DE/DE]; Werderstr. 72, D-69120 Heidelberg (DE).	
(74) Anwälte: CASTELL, Klaus usw.; Gutenbergstr. 12, D-52349 Düren (DE).	

(54) Title: **DEVICE AND METHOD FOR FLUORESCENCE CORRELATION SPECTROSCOPY, ESPECIALLY FOR MULTI-COLOUR FLUORESCENCE CORRELATION SPECTROSCOPY**

(54) Bezeichnung: **FLUORESZENZKORRELATIONSSPEKTROSKOPIEVORRICHTUNG UND -VERFAHREN, INSBESONDERE ZUR MEHRFARBENFLUORESZENZKORRELATIONSSPEKTROSKOPIE**

(57) Abstract

The invention relates to a device for fluorescence correlation spectroscopy, especially multicolour fluorescence correlation spectroscopy. Rays of light are focussed in a transparent medium which is situated in a sample vessel (2). The inventive device comprises a vessel holder (1). At least two sample vessels (2) having a focussing, reflectively coated bottom (6) are arranged in said vessel holder (1). The two sample vessels (2) share a covering (3) that is at least partially translucent. According to the inventive method, a mould (4) comprising a window that faces the bottom (6) is inserted into the sample vessel (2). The amount of the transparent medium is chosen in such a way that the window of the mould (4) is moistened by the medium.



(57) Zusammenfassung

Eine Vorrichtung zur Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie, insbesondere zur Mehrfarbenfluoreszenzkorrelationsspektroskopie, bei der Lichtstrahlen in einem transparenten Medium fokussiert werden, welches sich in einem Probengefäß (2) befindet, umfaßt einen Gefäßhalter (1), in welchem zumindest zwei Probengefäße (2) mit einem fokussierenden, verspiegelten Boden (6) angeordnet sind, und eine gemeinsame Abdeckung (3) für beide Probengefäße (2), die zumindest teilweise lichtdurchlässig ist. Bei einem entsprechenden Verfahren wird in das Probengefäß (2) ein Stempel (4) mit einem dem Boden (6) zugewandten Lichtfenster eingeführt und die Menge des transparenten Mediums derart gewählt, dass das Lichtfenster des Stempels (4) von dem Medium benetzt wird.

Fluoreszenzkorrelationsspektroskopievorrichtung und -verfahren,
insbesondere zur Mehrfarbenfluoreszenzkorrelationsspektroskopie

Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung und ein Verfahren zur
Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie, insbesondere zur Mehrfarben-
fluoreszenzkorrelationsspektroskopie. Hierbei werden Reaktionspartner
5 mit Fluoreszenzfarbstoffen markiert und in einem flüssigen, transparenten
Medium frei diffundieren gelassen. Auftretende Fluktuationen der
Fluoreszenzintensität können mit optischen Verfahren detektiert werden.
Insbesondere bei der Mehrfarbenfluoreszenzkorrelationsspektroskopie
werden molekulare Wechselwirkungen untersucht, indem zwei
10 Reaktionspartner mit unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen markiert
werden. Die Reaktionspartner erzeugen bei ihrer Diffusion durch das
transparente Medium Fluktuationen der Fluoreszenzintensität. Werden
überwiegend korrelierte Intensitätsfluktuationen zwischen den Emissions-
wellenlängen der beiden Fluorophore detektiert, so deutet dieses auf eine
15 Komplexbildung zwischen den beiden Partnern hin.

Für derartige Untersuchungen werden typischerweise kleinste
Probenmengen verwendet, da sich das untersuchbare Raumvolumen auf
einen Raumbereich in unmittelbarer Umgebung eines Fokusses, auf
welchen Lichtstrahlen in dem transparenten Medium fokussiert werden,
20 beschränkt.

Andererseits ist es notwendig, damit die Fluoreszenzkorrelations-
spektroskopie mit allen ihren Vorteilen einer möglichst breiten

Anwendung zugeführt werden kann, eine möglichst unkomplizierte und routinemäßige Durchführung dieses Messverfahrens zu ermöglichen.

Es ist somit Aufgabe vorliegender Erfindung, eine gattungsgemäße Vorrichtung sowie ein gattungsgemäßes Verfahren zur Fluoreszenz-
5 korrelationsspektroskopie, insbesondere zur Mehrfarbenfluoreszenz-
korrelationsspektroskopie, bereit zu stellen, welche einerseits eine routinemäßige Durchführung von Messungen und andererseits gleichwohl ein Beherrschen kleinster Probenmengen ermöglichen.

Als Lösung schlägt die Erfindung einerseits eine gattungsgemäße
10 Vorrichtung vor, die einen Gefäßhalter, in welchem zumindest zwei
Probengefäße mit einem fokussierenden, verspiegelten Boden angeordnet
sind, und eine gemeinsame Abdeckung für beide Probengefäße umfaßt,
die zumindest teilweise lichtdurchlässig ist.

Eine derartige Vorrichtung läßt sich auch in kleinsten Abmessungen mit
15 ausreichender Genauigkeit fertigen, so dass kleinste Probenvolumina
innerhalb derartiger, kleiner Probengefäße für eine Messung zur
Verfügung stehen. Darüber hinaus ermöglicht die Anordnung mehrerer
Probengefäße in einem Gefäßhalter, dass diese ohne Weiteres gleichzeitig
bzw. kurz hintereinander für eine Messung vorbereitet werden können.
20 Auch ist es möglich, die entsprechende Meßapparatur mit einer
Haltevorrichtung bzw. Transportvorrichtung für den Gefäßhalter zu
versehen, so dass der Inhalt der jeweiligen Probengefäße ohne weiteren
Aufwand hintereinander oder sogar gleichzeitig einer Messung zugeführt
werden kann. Die auf diese Weise beschriebene, erfindungsgemäße
25 Anordnung ermöglicht somit aufgabengemäß einerseits die Verwendung

kleinster Probenmengen und ermöglicht andererseits eine nahezu fließbandartige Probenpräparation bzw. Durchführung der Messung.

Durch den fokussierenden, verspiegelten Boden ist es darüber hinaus möglich, die anregenden Lichtstrahlen senkrecht in das transparente
5 Medium einfallen zu lassen und sie erst innerhalb des Mediums zum Fokus hin abzulenken. Hierdurch können Meßfehler, die durch unterschiedliche Brechungsindizes und verschiedene Frequenzen des eingestrahltten Lichtes bedingt sind, vermieden bzw. auf ein Minimum reduziert werden.

10 Vorteilhafterweise wird das Probengefäß soweit gefüllt, dass es die Abdeckung erreicht. Auf diese Weise ist gewährleistet, dass ein Lichteinfall in das Probengefäß lediglich von der Abdeckungsgeometrie und nicht von irgendwelchen Oberflächenspannungen des transparenten Mediums oder ähnlichem abhängt.

15 Ein konstruktiv verhältnismäßig einfacher Aufbau der Gesamtanordnung folgt, wenn die Probengefäße durch Ausformungen in dem Gefäßhalter gebildet werden. Bei einer derartigen Anordnung ist es möglich, den Gefäßhalter einstückig auszubilden und mit jedem geeigneten Verfahren Vertiefungen in denselben einzubringen, die als Probengefäße dienen.

20 Hierbei ist lediglich der Boden dieser Ausformungen in erfindungsgemäßer Weise fokussierend auszubilden.

Der Boden kann hierbei parabolisch oder auch elliptisch geformt sein. Ebenso ist in bestimmten Grenzen ein halbkugelschalenförmiger Boden denkbar.

Um eine langfristige Haltbarkeit der Verspiegelung zu gewährleisten, kann der Boden mit einer gegenüber üblichen Pufferlösungen resistenten Schicht verspiegelt werden.

Hierbei sollte der Fokus des Probengefäßes derart gewählt sein, dass er
5 innerhalb des Probengefäßes liegt. Bei einer derartigen Anordnung kann auf komplexe Optiken, die das einfallende Licht vorab in geeigneter Weise ablenken, verzichtet werden, wodurch insbesondere auch die Gefahr von Meßfehlern durch unterschiedliche Brechungswinkel reduziert wird.

Insbesondere soll der Fokus unterhalb der Abdeckung bzw. unterhalb des
10 Stempels vorgesehen sein.

An jedem Probengefäß kann ein Druckausgleich vorgesehen sein. Ein derartiger Druckausgleich ermöglicht es, einerseits jedes Probengefäß in beliebiger Weise zu füllen oder zu entleeren und/oder andererseits zu gewährleisten, dass Baugruppen, wie eine Abdeckung bzw. ein in der
15 Abdeckung vorgesehenes Lichtfenster in die in dem Probengefäß erhaltene Flüssigkeit eintauchen bzw. vollständig von dieser benetzt werden können. Wie bereits vorstehend erläutert, ermöglicht diese Benetzung bzw. dieses Eintauchen, dass die Oberflächenrichtung der Flüssigkeit nicht zufällig sondern durch die Oberfläche der Abdeckung bzw. die Oberfläche eines
20 Lichtfensters bestimmt wird. Es versteht sich, dass ein derartiger Druckausgleich auch unabhängig von den übrigen Merkmalen der erfindungsgemäßen Vorrichtung vorteilhaft für eine Vorrichtung zur Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie Anwendung finden kann.

In vorliegendem Zusammenhang wird unter dem Begriff "Lichtfenster" eine Baugruppe bzw. ein Bereich der Abdeckung verstanden, durch welchen Licht zur Fluoreszenzanregung durch die Abdeckung hindurch in ein jeweiliges Probengefäß gestrahlt wird.

- 5 Beispielsweise kann die Abdeckung als planparallele Platte ausgebildet sein, die auf dem Gefäßhalter plan aufliegt und die Probengefäße abdeckt. Hierbei besteht jedoch in der Regel die Schwierigkeit, die darunterliegenden Gefäße zumindest derart vollständig mit dem flüssigen Medium zu füllen, dass wenigstens die jeweiligen Lichtfenster benetzt sind. Durch
10 geeignete Maßnahmen, wie Abdichtungen, genaue Dosierungen und Beherrschung der Adhäsions- und Kohäsionskräfte lassen sich diesbezüglich Wege finden.

- Diese Probleme lassen sich vermeiden, wenn an der Abdeckung ein Stempel vorgesehen ist, der jeweils in ein Probengefäß hineinragt. Durch
15 den Spalt zwischen Stempel und Probengefäßwand kann nunmehr ein Druckausgleich stattfinden, so dass das Probengefäß nicht mehr mit allerhöchster Genauigkeit befüllt werden muß. Etwaige Luft bzw. zuviel vorhandenes transparentes Medium können an den Seiten abgeführt werden. Insbesondere kann durch einfache Maßnahmen, wie beispielsweise
20 kleine Kanäle oder Ablauflöcher, vermieden werden, dass transparentes Medium in benachbarte Probengefäße gelangt.

Vorteilhafterweise sind die Lichtfenster der Abdeckung jeweils in den Stempeln vorgesehen.

Die Stempel können einerseits einstückig mit der Abdeckung ausgestaltet sein. Andererseits ist es möglich, dass die Stempel durch Enden von Lichtleitfasern gebildet werden, die mit der Abdeckung verbunden sind und durch diese hindurch in die Probengefäße hineinragen.

- 5 Vorteilhafterweise ist der Stempel derart dimensioniert, dass zwischen ihm und dem Probengefäß ein um den Stempel umlaufender Spalt verbleibt. Dieser Spalt wird ausreichend groß gewählt, so dass kein transparentes Medium aus dem Probengefäß herausströmt, wenn der Stempel in das Probengefäß eintaucht und seine Meßposition erreicht. Der durch diesen
- 10 Spalt gebildete Raum dient somit als Puffer, der verschiedene Füllmengen, insbesondere im Rahmen einer Meßgenauigkeit, ausgleichen kann.

- Es versteht sich, dass ein derartiger, in ein Probengefäß eintauchender Stempel auch unabhängig von den übrigen Merkmalen bei einem einzelnen Probengefäß für eine Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie vorteilhaft
- 15 Verwendung finden kann. Insbesondere braucht dann das Probengefäß nicht mit einem genau bemessenem Füllvolumen befüllt zu werden. Dieses ist insbesondere bei kleinen Probenmengen von großem Vorteil, da bei diesen um so schwerer genaue Volumina abgemessen werden können. Insofern ermöglicht ein derartiger Stempel auch unabhängig von den
- 20 übrigen Merkmalen, dass bei kleinsten Probenmengen mit verhältnismäßig großen Toleranzen und somit unter verhältnismäßig unkomplizierten und schnell ausführbaren Bedingungen Messungen durchgeführt werden können.

- Auch schlägt die Erfindung ein Verfahren zur Fluoreszenzkorrelations-
- 25 spektroskopie, insbesondere zur Mehrfarbenfluoreszenzkorrelations-

spektroskopie, vor, bei dem Lichtstrahlen in einem transparenten Medium fokussiert werden, welches sich in einem Probengefäß befindet. Hierbei wird in das Probengefäß, welches einen fokussierenden Boden aufweist, ein Stempel mit einem dem Boden zugewandten Lichtfenster eingeführt
5 und die Menge des transparenten Medium derart gewählt, dass das Lichtfenster des Stempels von dem Medium benetzt wird.

Vorteilhafterweise wird der Stempel lediglich bis oberhalb des Fokusses in das Probengefäß eingeführt, so dass durch das Lichtfenster einfallendes Licht durch den Boden in den Fokus fokussiert werden kann und dort, in
10 dem transparenten Medium, eine gewünschte Messung initiiert.

Das Verfahren gestaltet sich besonders einfach, wenn der Stempel in das transparente Medium eintaucht. Auf diese Weise ist in jedem Falle eine ausreichende Benetzung gewährleistet.

Weist der Stempel einen zur optischen Achse des fokussierenden
15 Probengefäßbodens senkrechten Oberflächenbereich auf, so wird auf einfache, konstruktive Weise gewährleistet, dass durch den Stempel einfallendes Licht nicht unnötigerweise gebrochen wird. Hierdurch lassen sich Fehler, die durch Licht verschiedener Frequenzen bedingt sind, vermeiden.

20 Es versteht sich, dass die im vorliegenden Zusammenhang angesprochenen geometrischen Verhältnisse, wie "senkrecht", "elliptisch" bzw. "parabolisch" und ähnliches, lediglich im Rahmen der für die Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie gewünschten Meßgenauigkeiten exakt gewählt werden brauchen. Insbesondere der Boden sollte auf einen

Bruchteil der verwendeten Wellenlängen genau gefertigt sein. Auch die Abweichungen der Abdeckung, des Stempels bzw. der geometrischen Lage des Lichtfensters sind entsprechend der verwendeten Wellenlängen größer oder kleiner zu wählen.

- 5 Es ist darüber hinaus möglich, in der Wandung des Probengefäßes eine Öffnung vorzusehen, die in eine Zuführleitung und/oder eine Abführleitung für das transparente Medium mündet. Derartige Leitungen können beispielsweise durch einfache Bohrungen in dem Gefäßhalter gewährleistet sein. Ebenso könnten an der Gefäßhalteroberfläche
10 unmittelbar unter der Abdeckung Nuten vorgesehen werden, die, wenn durch die Abdeckung abgedeckt, derartige Kanäle bilden. Derartige schlichte Öffnungen bzw. derartige Kanäle können auch in kleinsten Geometrien ohne Weiteres mit bereits bekannten technischen Verfahren in einem Gefäßhalter bereitgestellt werden. Derartige Leitungen können
15 einerseits einem Druckausgleich und andererseits einer Zufuhr bzw. Abfuhr des transparenten Mediums oder aber auch anderer Substanzen, wie Meßsubstanzen oder Reinigungssubstanzen, dienen.

- Da bei derartigen, schlichten Öffnungen auf jegliche konstruktive Feinheiten, wie kapillarartigen Zuführungen bis in den Fokus hinein und
20 ähnliches, verzichtet wird, sind derartige Anordnungen auch bei kleinsten Probengefäßgrößen realisierbar. Auch diese fördern eine schnelle und serielle Durchführung der Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie, wobei es sich versteht, dass derartige Öffnungen auch unabhängig von der Zahl der verwendeten Probengefäße und dem Vorhandensein einer Abdeckung
25 vorteilhaft Verwendung finden können.

Weitere Vorteile, Ziele und Eigenschaften vorliegender Erfindung werden anhand der Beschreibung anliegender Zeichnung erläutert, in welcher beispielhaft zwei erfindungsgemäße Vorrichtungen zur Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie dargestellt sind. In der Zeichnung zeigen:

5 Figur 1 einen schematischen Schnitt durch eine erste erfindungsgemäße Vorrichtung und

Figur 2 einen schematischen Schnitt durch eine zweite erfindungsgemäße Vorrichtung.

Die in Figur 1 dargestellte erste Ausführungsform der Erfindung weist
10 einen Gefäßhalter 1 auf, in welchen Ausformungen als Probengefäße 2 (exemplarisch beziffert) eingebracht sind. Darüber hinaus umfaßt diese Ausführungsform eine Abdeckung 3 mit durchsichtigen Stempeln 4 (exemplarisch beziffert), die in abgedecktem Zustand in die Probengefäße 2 hineinragen.

15 Auf der gegenüberliegenden Seite der Abdeckung 3 sind Lichtleiter 5 (exemplarisch beziffert) vorgesehen, durch welche Licht durch die Stempel 4 hindurch in die Probengefäße 2 und aus diesen herausgeleitet werden kann. Es versteht sich, dass die Lichtleiter 5 auch statt der Stempel 4 vorgesehen sein können und durch die Abdeckung 3 hindurch in
20 die Probengefäße 2 hineinragen können.

Der Boden 6 (exemplarisch beziffert) eines jeden Probengefäßes ist fokussierend ausgeformt und an seiner Innenseite mit einer gegenüber üblichen Pufferlösungen resistenten Schicht verspiegelt.

Zum Betrieb dieser Vorrichtung werden die Probengefäße 2 nach Bedarf mit einem transparenten Medium befüllt. Dieses geschieht soweit, dass nach Aufsetzen der Abdeckung 3 die Stempel 4 jeweils in das transparente Medium eintauchen. Insofern dient der zwischen Probengefäß 2 und
5 Stempel 4 vorhandene Spalt 7 (exemplarisch beziffert) als Druckausgleich und als Zwischenspeicher für zuviel eingefülltes transparentes Medium.

Dadurch dass die Unterseite der Stempel 7 einen zur optischen Achse des fokussierenden Probengefäßbodens 6 senkrechten Oberflächenbereich aufweist und dass Licht aus dem Lichtleiter 5 annähernd senkrecht durch
10 ein in diesem Oberflächenbereich befindliches Lichtfenster in das Probengefäß 2 gelangt, braucht die Abdeckung 3 nicht sehr genau bezüglich der Probengefäße 2 positioniert werden. Leichte seitliche Abweichungen spielen wegen des parallelen Lichteinfalls und des entsprechend fokussierend gewählten Bodens 6 keine Rolle.

15 Bei der in Figur 2 dargestellten Ausführungsform sind in einem Gefäßhalter 1 Probengefäße 2 (exemplarisch beziffert) mit fokussierenden, verspiegelten Böden 6 (exemplarisch beziffert) vorgesehen. Auf dem Gefäßhalter 1 liegt eine Abdeckung 3 mit einer planen Unterseite auf, in welche den Probengefäßen 2 entsprechend Lichtleiter 5 (exemplarisch
20 beziffert) eingebracht sind. Darüber hinaus sind in jeder Probengefäßwand Öffnungen 8 (exemplarisch beziffert) vorgesehen, die in Zufuhr- bzw. Abfuhrleitungen 9 (exemplarisch beziffert) münden. Diese dienen einerseits als Druckausgleich bzw. Überlauf und verhindern auf diese Weise, dass bei Auflegen der Abdeckung 3 transparentes Medium über
25 die Probengefäßwandung hinaus in andere Probengefäße 2 gelangt. Bei

aufgelegter Abdeckung 3 können diese Leitungen 9 darüber hinaus dafür genutzt werden, Probenflüssigkeit auszutauschen bzw. die Probengefäße 2 zu spülen.

Die Leitungen 9 können einerseits durch Bohrungen (wie dargestellt) bereitgestellt werden. Andererseits können in der Oberseite des Gefäßhalters 1 Nuten oder andere Ausnehmungen vorgesehen sein, die gemeinsam mit der Abdeckung 3 die Leitungen 9 bilden. Es ist denkbar, eine der Öffnungen 8 im Bodenbereich des Probengefäßes 2 vorzusehen.

Die Durchmesser der Öffnungen 8 und der Leitungen 9 sowie deren Lage sind derart gewählt, dass ein vollständiges Befüllen der Probengefäße möglich ist. Wie aus Figur 2 unmittelbar ersichtlich, ist es auch möglich, die Lichtleiter 5 durch die Abdeckung 3 bis in die Probengefäße 2 hindurchzuführen. Dann ist ein vollständiges Befüllen der Probengefäße 2 nicht mehr notwendig.

Patentansprüche:

1. Vorrichtung zur Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie, insbesondere zur Mehrfarbenfluoreszenzkorrelationsspektroskopie, bei der Lichtstrahlen in einem transparenten Medium fokussiert werden, welches sich in einem Probengefäß (2) befindet, *gekennzeichnet durch* einen Gefäßhalter (1), in welchem zumindest zwei Probengefäße (2) mit einem fokussierenden, verspiegelten Boden (6) angeordnet sind, und eine gemeinsame Abdeckung (3) für beide Probengefäße (2), die zumindest teilweise lichtdurchlässig ist.
- 10 2. Vorrichtung nach Anspruch 1, *dadurch gekennzeichnet, dass* die Probengefäße (2) durch Ausformungen in dem Gefäßhalter (1) gebildet sind.
3. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2, *dadurch gekennzeichnet, dass* der Fokus innerhalb der Probengefäße (2) liegt.
- 15 4. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, *dadurch gekennzeichnet, dass* jedes Probengefäß (2) eine Druckausgleich aufweist.
5. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, *dadurch gekennzeichnet, dass* die Abdeckung (3) zumindest zwei Stempel (4) aufweist, die jeweils in ein Probengefäß (2) hineinragen.
- 20 6. Vorrichtung nach Anspruch 5, *dadurch gekennzeichnet, dass* zumindestens ein Stempel (4) derart dimensioniert ist, dass zwischen

dem Stempel (4) und dem Probengefäß (2) ein um den Stempel (4) umlaufender Spalt (7) verbleibt.

- 5 7. Vorrichtung nach Anspruch 5 oder 6, *dadurch gekennzeichnet, dass* zumindest ein Stempel (4) einen zur optischen Achse des fokussierenden Probengefäßbodens (6) senkrechten Oberflächenbereich aufweist.
- 10 8. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, *dadurch gekennzeichnet, dass* in der Wandung des Probengefäßes (2) eine Öffnung (8) vorgesehen ist, die in eine Zufuhr- und/oder Abfuhrleitung für das transparente Medium mündet.
- 15 9. Verfahren zur Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie, insbesondere zur Mehrfarbenfluoreszenzkorrelationsspektroskopie, bei dem Lichtstrahlen in einem transparenten Medium fokussiert werden, welches sich in einem Probengefäß (2) befindet, *dadurch gekennzeichnet, dass* in das Probengefäß (2), welches einen fokussierenden Boden (6) aufweist, ein Stempel (4) mit einem dem Boden (6) zugewandten Lichtfenster eingeführt und die Menge des transparenten Mediums derart gewählt wird, dass das Lichtfenster des Stempels (4) von dem Medium benetzt wird.
- 20 10. Verfahren nach Anspruch 9, *dadurch gekennzeichnet, dass* der Stempel (4) bis oberhalb des Fokusses des Bodens (6) eingeführt wird.
11. Verfahren nach Anspruch 9 oder 10, *dadurch gekennzeichnet, dass* der Stempel (4) in das transparente Medium eintaucht.

Fig. 1

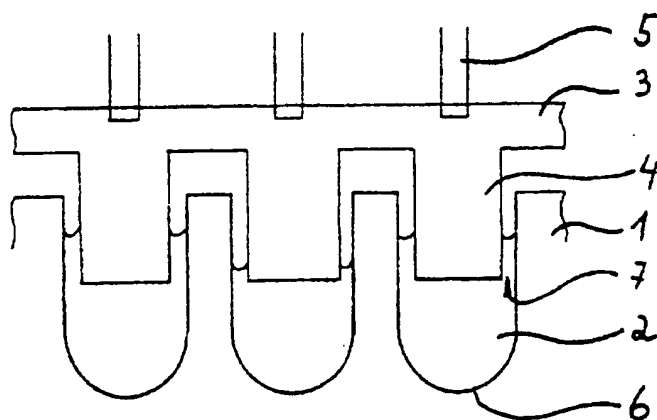
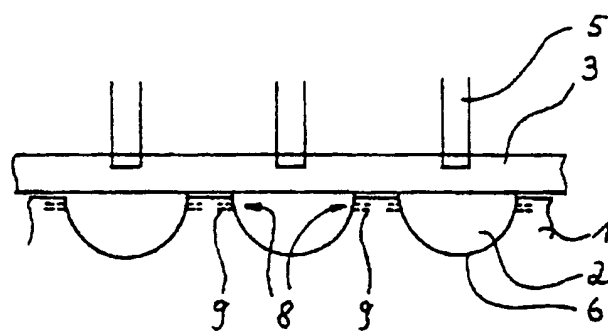


Fig. 2





VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts P01194WO	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/DE00/00438	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 16/02/2000	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 18/02/1999
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK G01N21/00		
Anmelder DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM et al.		
<p>1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.</p> <p>2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 5 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).</p> <p>Diese Anlagen umfassen insgesamt 2 Blätter.</p>		
<p>3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:</p> <ul style="list-style-type: none"> I <input checked="" type="checkbox"/> Grundlage des Berichts II <input type="checkbox"/> Priorität III <input type="checkbox"/> Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit IV <input type="checkbox"/> Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung V <input checked="" type="checkbox"/> Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung VI <input type="checkbox"/> Bestimmte angeführte Unterlagen VII <input checked="" type="checkbox"/> Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung VIII <input type="checkbox"/> Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung 		
Datum der Einreichung des Antrags 10/08/2000	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 12.06.2001	
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Van der Goot, D Tel. Nr. +49 89 2399 2562 	

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Absender: MIT DER INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN
PRÜFUNG BEAUFTRAGTE BEHÖRDE

An:

LIERMANN-CASTELL
Gutenbergstrasse 12
52349 Düren
ALLEMAGNE

PCT

MITTEILUNG ÜBER DIE ÜBERSENDUNG
DES INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN
PRÜFUNGSBERICHTS
(Regel 71.1 PCT)

Absendedatum
(Tag/Monat/Jahr) 12.06.2001

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts
P01194WO

WICHTIGE MITTEILUNG

Internationales Aktenzeichen
PCT/DE00/00438

Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)
16/02/2000

Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr)
18/02/1999

Anmelder
DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM et al.

1. Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß ihm die mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde hiermit den zu der internationalen Anmeldung erstellten internationalen vorläufigen Prüfungsbericht, gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen, übermittelt.
2. Eine Kopie des Berichts wird - gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen - dem Internationalen Büro zur Weiterleitung an alle ausgewählten Ämter übermittelt.
3. Auf Wunsch eines ausgewählten Amtes wird das Internationale Büro eine Übersetzung des Berichts (jedoch nicht der Anlagen) ins Englische anfertigen und diesem Amt übermitteln.

4. ERINNERUNG

Zum Eintritt in die nationale Phase hat der Anmelder vor jedem ausgewählten Amt innerhalb von 30 Monaten ab dem Prioritätsdatum (oder in manchen Ämtern noch später) bestimmte Handlungen (Einreichung von Übersetzungen und Entrichtung nationaler Gebühren) vorzunehmen (Artikel 39 (1)) (siehe auch die durch das Internationale Büro im Formblatt PCT/IB/301 übermittelte Information).

Ist einem ausgewählten Amt eine Übersetzung der internationalen Anmeldung zu übermitteln, so muß diese Übersetzung auch Übersetzungen aller Anlagen zum internationalen vorläufigen Prüfungsbericht enthalten. Es ist Aufgabe des Anmelders, solche Übersetzungen anzufertigen und den betroffenen ausgewählten Ämtern direkt zuzuleiten.

Weitere Einzelheiten zu den maßgebenden Fristen und Erfordernissen der ausgewählten Ämter sind Band II des PCT-Leitfadens für Anmelder zu entnehmen.

Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung
beauftragten Behörde

 Europäisches Patentamt
D-80298 München
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d
Fax: +49 89 2399 - 4465

Bevollmächtigter Bediensteter

Weber, R

Tel. +49 89 2399-2382



INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/DE00/00438

I. Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):
Beschreibung, Seiten:

1-11 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

1-10 mit Telefax vom 29/05/2001

Zeichnungen, Blätter:

1/1 ursprüngliche Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/DE00/00438

- ☐ Beschreibung, Seiten:
☐ Ansprüche, Nr.:
☐ Zeichnungen, Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-10
	Nein: Ansprüche	
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	1-10
	Nein: Ansprüche	
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-10
	Nein: Ansprüche	

2. Unterlagen und Erklärungen siehe Beiblatt

VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist:
siehe Beiblatt

Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

D1: US-A-4 200 802 (SALZMAN GARY C ET AL) 29. April 1980 (1980-04-29)

D2: DE 44 05 375 A (FRITZ NERBE NACHFOLGER JUERGEN) 24. August 1995
(1995-08-24)

Allgemeine Bemerkung.

Die Erfindung wurde in der fernmündlichen Rücksprache vom 28-05.01 diskutiert. Anlässlich dieser Rücksprache wurden am 29.05.01 per Fernschreiben neue Ansprüche 1-10 eingereicht, die diesem Internationalen Vorläufigen Prüfungsbericht zugrunde liegen.

Abschnitt V

1. Neuheit und erfinderische Tätigkeit der Ansprüche 1 und 8.

- 1.1 Anspruch 1 betrifft eine Fluoreszenzkorrelationsspektroskopievorrichtung bei der bekanntlich Lichtstrahlen in einem transparenten Medium fokussiert werden, welches sich in einem Probengefäß befindet.

Bei Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie werden typischerweise kleinste Probenmengen verwendet, da sich das untersuchbare Raumvolumen auf einem Raumbereich in unmittelbarer Umgebung des Fokusses, auf welchen die Lichtstrahlen fokussiert werden, beschränkt. Um einerseits die Verwendung kleinster Probenmengen und andererseits eine nahezu fließbandartige Probenpräparation und routinemäßige Durchführung der Messungen zu ermöglichen, ist gemäß dem Kennzeichen des Anspruchs 1 ein Gefäßhalter vorgesehen, in welchem zumindest zwei Probengefäße mit einem fokussierenden, verspiegelten Boden angeordnet sind, welche Probengefäße mit einer gemeinsamen, zumindest teilweise lichtdurchlässigen Abdeckung versehen sind, die zumindest zwei Stempel aufweist, die jeweils in ein Probengefäß hineinragen.

Keine der unter Regel 64.1 PCT im Recherchenbericht zitierten Druckschriften befaßt sich mit Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie. Schon deshalb ist der Gegenstand des Anspruchs 1 neu (Artikel 33(2) PCT).

Der Gegenstand des Anspruchs 1 wird aus folgenden Gründen auch als auf

erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet (Artikel 33(3) PCT).

Die Druckschrift D1 zeigt eine Fluoreszenzspektroskopievorrichtung mit einem **einzelnen** Probengefäß, das mit einem fokussierenden, verspiegelten Boden und einer lichtdurchlässigen Abdeckplatte versehen ist. Gemäß D1 stellt das Probengefäß eine **Durchflußzelle** dar, in der die Proben eine nach der anderen durchgeführt werden. Weil die Umwandlung der einzelnen Durchflußzelle in eine Anordnung mit mehreren Durchflußzellen wohl keinen Sinn macht, veranlaßt D1 den Fachmann in keinerlei Weise eine solche Umwandlung vorzunehmen. Somit würde er die Druckschrift D1 auch nicht mit der Druckschrift D2 kombinieren, die eine für **mikroskopische** Verfahren ausgelegte Mikrotiterplatte mit einer Vielzahl von Probengefäßen zeigt, die mit einer gemeinsamen Abdeckung mit nach unten weisenden Ansätzen (Stempeln) versehen ist. Vielmehr würde das Kombinieren der Druckschriften D1 und D2 auf einer ex-post-facto-Analyse beruhen, zumal D1 und D2 unterschiedliche Auswerteverfahren betreffen.

- 1.2 Die unter 1.1 aufgeführten Argumenten zur Begründung der erfinderischen Tätigkeit des Gegenstands des Anspruchs 1 gelten mutatis mutandis auch zur Begründung der erfinderischen Tätigkeit des Gegenstands des Anspruchs 8.
2. Die gewerbliche Anwendbarkeit der Gegenstände der Ansprüche 1 und 8 ist unzweifelhaft.
3. Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit der Gegenstände der Ansprüche 2-7 und 9-10 ergeben sich aus der Abhängigkeit dieser Ansprüche von Anspruch 1 bzw. Anspruch 8.

Abschnitt VII

Die Beschreibung steht nicht, wie in Regel 5.1 a) iii) PCT vorgeschrieben, in Einklang mit den Ansprüchen.

Liermann-Castell P01194WO

1

Patentansprüche:

1. Fluoreszenzkorrelationsspektroskopievorrichtung, insbesondere Mehrfarbfluoreszenzkorrelationsspektroskopievorrichtung, bei der Lichtstrahlen in einem transparenten Medium fokussiert werden, welches
5 sich in einem Probengefäß (2) befindet, *gekennzeichnet durch* einen Gefäßhalter (1), in welchem zumindest zwei Probengefäße (2) mit einem fokussierenden, verspiegelten Boden (6) angeordnet sind, und eine gemeinsame Abdeckung (3) für beide Probengefäße (2), die zumindest teilweise lichtdurchlässig ist und die zumindest zwei Stempel (4)
10 aufweist, die jeweils in ein Probengefäß (2) hineinragen.
2. Vorrichtung nach Anspruch 1, *dadurch gekennzeichnet, dass* die Probengefäße (2) durch Ausformungen in dem Gefäßhalter (1) gebildet sind.
3. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2, *dadurch gekennzeichnet, dass*
15 der Fokus innerhalb der Probengefäße (2) liegt.
4. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, *dadurch gekennzeichnet, dass* jedes Probengefäß (2) eine Druckausgleich aufweist.
5. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, *dadurch gekennzeichnet, dass* zumindestens ein Stempel (4) derart dimensioniert ist,
20 dass zwischen dem Stempel (4) und dem Probengefäß (2) ein um den Stempel (4) umlaufender Spalt (7) verbleibt.

GEÄNDERTES BLATT

Empfangszeit 29.Mai. 8:59

6. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, ***dadurch gekennzeichnet, dass*** zumindest ein Stempel (4) einen zur optischen Achse des fokussierenden Probengefäßbodens (6) senkrechten Oberflächenbereich aufweist.
- 5 7. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, ***dadurch gekennzeichnet, dass*** in der Wandung des Probengefäßes (2) eine Öffnung (8) vorgesehen ist, die in eine Zufuhr- und/oder Abfuhrleitung für das transparente Medium mündet.
- 10 8. Fluoreszenzkorrelationsspektroskopieverfahren, insbesondere Mehrfarbfluoreszenzkorrelationsspektroskopieverfahren, bei dem Lichtstrahlen in einem transparenten Medium fokussiert werden, welches sich in einem Probengefäß (2) befindet, ***dadurch gekennzeichnet, dass*** in das Probengefäß (2), welches einen fokussierenden Boden (6) aufweist, ein Stempel (4) mit einem dem Boden (6) zugewandten
- 15 Lichtfenster eingeführt und die Menge des transparenten Mediums derart gewählt wird, dass das Lichtfenster des Stempels (4) von dem Medium benetzt wird.
- 20 9. Verfahren nach Anspruch 8, ***dadurch gekennzeichnet, dass*** der Stempel (4) bis oberhalb des Fokusses des Bodens (6) eingeführt wird.
10. Verfahren nach Anspruch 8 oder 9, ***dadurch gekennzeichnet, dass*** der Stempel (4) in das transparente Medium eintaucht.

CLAIMS

1. Device for fluorescence correlation spectroscopy,
especially for multicolour fluorescence correlation
5 spectroscopy, in which light rays are focussed in a
transparent medium which is located in a sample vessel
(2), characterised by a vessel holder (1) in which at
least two sample vessels (2) with a focussing
reflection-coated bottom (6) are provided, and a
10 common cover (3) for both sample vessels (2) which is
at least partly transparent to light.
2. Device according to Claim 1, characterised in that the
sample vessels (2) are formed by recesses in the
15 vessel holder (1).
3. Device according to Claims 1 or 2, characterised in
that the focus lies inside the sample vessel (2).
- 20 4. Device according to one of Claims 1 to 3,
characterised in that each sample vessel (2) exhibits
pressure equalisation.
5. Device according to one of Claims 1 to 4,
25 characterised in that the cover (3) has at least two
plungers (4) which each protrude into a sample vessel
(2).
6. Device according to Claim 5, characterised in that at
30 least one plunger (4) has dimensions such that between
the plunger (4) and the sample vessel (2) there
remains a gap (7) surrounding the plunger (4).
7. Device according to Claims 5 or 6, characterised in
35 that at least one plunger (4) has a surface region
perpendicular to the optic axis of the focussing
bottom of the sample vessel (6).

8. Device according to one of Claims 1 to 7, characterised in that in the wall of the sample vessel (2) there is provided an opening (8) which opens into a supply and/or drain pipe for the transparent medium.
- 5
9. Method for fluorescence correlation spectroscopy, especially for multicolour fluorescence correlation spectroscopy, in which light rays are focussed in a transparent medium which is located in a sample vessel
- 10 (2), characterised in that in the sample vessel (2) which has a focussing bottom (6) there is inserted a plunger (4) with a light window facing the bottom (6) and the quantity of the transparent medium is selected so that the light window of the plunger (4) is wetted
- 15 by the medium.
10. Method according to Claim 9, characterised in that the plunger (4) is inserted to a position above the focus of the bottom (6).
- 20
11. Method according to Claims 9 or 10, characterised in that the plunger (4) is immersed in the transparent medium.

913575

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference P01194WO	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/DE00/00438	International filing date (day/month/year) 16 February 2000 (16.02.00)	Priority date (day/month/year) 18 February 1999 (18.02.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC G01N 21/00		
Applicant DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 5 sheets, including this cover sheet.

☒ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of 2 sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☒ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

RECEIVED

MAY 31 2002

TC 1700

Date of submission of the demand 10 August 2000 (10.08.00)	Date of completion of this report 12 June 2001 (12.06.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/DE00/00438

I. Basis of the report

1. With regard to the **elements** of the international application:*

- ☐ the international application as originally filed
- ☒ the description:
pages 1-11, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the claims:
pages _____, as originally filed
pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
pages _____, filed with the demand
pages 1-10, filed with the letter of 29 May 2001 (29.05.2001)
- ☒ the drawings:
pages 1/1, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the sequence listing part of the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.
These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description. pages _____
- ☐ the claims. Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

which the light beams are focussed. In order to make possible the use of the smallest quantities of sample and at the same time assembly-like sample preparation and routine performance of measurements, a vessel holder is provided, according to the characterising part of Claim 1, in which at least two sample vessels with a focussing, reflecting bottom are arranged, said sample vessels being fitted with a common, at least partially transparent cover with at least two punches which project each into a sample vessel.

None of the documents cited in the search report under PCT Rule 64.1 concerns fluorescence correlation spectroscopy. For this reason already, the subject matter of Claim 1 is novel (PCT Article 33(2)).

The subject matter of Claim 1 is also considered to involve an inventive step (PCT Article 33(3)) for the following reasons.

D1 shows a fluorescence spectroscopy device comprising a **single** sample vessel fitted with a focussing reflecting bottom and a transparent covering plate. According to D1, the sample vessel is a **throughflow cell** through which the samples pass one after the other. Since it does not make sense to transform a single throughflow cell into an arrangement with a plurality of throughflow cells, D1 does not prompt a person skilled in the art to provide such a transformation. Consequently, he would also not combine D1 with D2, which shows a microtitre plate designed for a **microscopic** method and having a plurality of sample vessels fitted with

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/DE 00/00438

a common cover with downward projections (punches). The combination of D1 and D2 would rather involve an *ex-post-facto* analysis, especially since D1 and D2 concern different evaluation methods.

- 1.2 The arguments in point 1.1, which substantiate the inventive step in the subject matter of Claim 1, also substantiate *mutatis mutandis* the inventive step of the subject matter of Claim 8.
2. The industrial applicability of the subjects of Claims 1 and 8 is unquestionable.
3. Since Claims 2-7 and 9-10 are dependent on Claims 1 and 8, respectively, their subjects are also novel, inventive and industrially applicable.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/DE 00/00438

VII. Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

Contrary to PCT Rule 5.1(a)(iii), the description is not in line with the claims.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/DE 00/00438

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-10	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-10	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-10	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

This report makes reference to the following documents:

- D1: US-A-4 200 802 (SALZMAN GARY C. ET AL.), 29 April 1980 (1980-04-29)
- D2: DE-A-44 05 375 (FRITZ NERBE NACHFOLGER JUERGEN), 24 August 1995 (1995-08-24).

General observation.

The invention was discussed during the telephone conversation of 28 May 2001. Following this conversation, new Claims 1-10 were submitted on 29 May 2001 by fax, and this international preliminary examination report is based on this new set of claims.

1. Novelty and inventive step of Claims 1 and 8

- 1.1 Claim 1 concerns a fluorescence correlation spectroscopy device in which light beams are focussed in a known manner in a transparent medium located in a sample vessel.

In fluorescence correlation spectroscopy, the smallest quantities of sample are typically used because the examinable space volume is limited to an area in the immediate proximity of the focus upon

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts P01194W0	WEITERES VORGEHEN	siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5
Internationales Aktenzeichen PCT/DE 00/ 00438	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 16/02/2000	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 18/02/1999
Anmelder DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM et al.		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 3 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

☐ in der internationalen Anmeldung in Schriftlicher Form enthalten ist.

☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☐ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der Zusammenfassung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der Zeichnungen ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. X

☒ wie vom Anmelder vorgeschlagen

☐ keine der Abb.

☐ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
 IPK 7 G01N21/64 G01N21/03 B01L3/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
 IPK 7 G01N B01L

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)
 EPO-Internal, PAJ

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X, P	DE 197 35 119 A (DEUTSCHES KREBSFORSCH) 11. März 1999 (1999-03-11) Spalte 1, Zeile 3 - Zeile 7 Spalte 2, Zeile 15 - Zeile 33 ---	1-3
Y	WO 91 17832 A (DYLLA RAINER) 28. November 1991 (1991-11-28) Seite 24, Zeile 16 -Seite 25, Zeile 1 Abbildungen 6-8 ---	1-11
Y	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 014, no. 389 (P-1095), 22. August 1990 (1990-08-22) & JP 02 147840 A (RES DEV CORP OF JAPAN;OTHERS: 02), 6. Juni 1990 (1990-06-06) Zusammenfassung --- -/--	1-7, 9-11



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

° Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

G Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

17. Oktober 2000

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

27/10/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
 Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Navas Montero, E

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie ^a	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	US 4 200 802 A (SALZMAN GARY C ET AL) 29. April 1980 (1980-04-29)	8
A	Spalte 2, Zeile 21 - Zeile 52 ----	1
Y	DE 44 05 375 A (FRITZ NERBE NACHFOLGER JUERGEN) 24. August 1995 (1995-08-24) Spalte 6, Zeile 34 - Zeile 47 ----	1,2,4,5
Y	DE 25 27 770 A (BERNDT HELMUT) 13. Januar 1977 (1977-01-13) Seite 6, Zeile 16 -Seite 6, Zeile 6 ----	1,2,4,5
A	US 4 432 642 A (TOLLES WALTER E) 21. Februar 1984 (1984-02-21) Spalte 2, Zeile 39 - Zeile 66; Abbildungen 3,5 ----	1,6
A	WO 97 45730 A (BIODX) 4. Dezember 1997 (1997-12-04) das ganze Dokument -----	1,8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/DE 00/00438

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 19735119 A	11-03-1999	WO 9909393 A EP 1004014 A	25-02-1999 31-05-2000
WO 9117832 A	28-11-1991	AU 7042391 A DE 59009600 D EP 0530186 A	10-12-1991 05-10-1995 10-03-1993
JP 02147840 A	06-06-1990	NONE	
US 4200802 A	29-04-1980	CA 1117310 A DE 3012242 A FR 2452705 A GB 2044951 A JP 55131750 A	02-02-1982 09-10-1980 24-10-1980 22-10-1980 13-10-1980
DE 4405375 A	24-08-1995	AT 183948 T DE 59506730 D WO 9522406 A EP 0744994 A ES 2137500 T	15-09-1999 07-10-1999 24-08-1995 04-12-1996 16-12-1999
DE 2527770 A	13-01-1977	NONE	
US 4432642 A	21-02-1984	NONE	
WO 9745730 A	04-12-1997	AU 3297197 A EP 0912892 A US 6103479 A	05-01-1998 06-05-1999 15-08-2000